

論文の内容の要旨

論文題目 PPAR δ の活性化に伴う代謝状態の変動に関する研究

氏名 田中 十志也

脂肪酸およびその誘導体をリガンドとする核内受容体「PPARs」には3種類のアイソフォーム (α , β/δ および γ) が存在している. PPARsアイソフォーム選択的アゴニストやノックアウトマウスの成績より, 脂肪細胞の分化および脂肪酸代謝がPPAR γ によって, また肝臓や心筋における脂肪酸代謝がPPAR α によって, それぞれ調節されていることが明らかにされている. 一方, PPAR δ はほぼ全ての臓器に普遍的に発現していることからPPAR α やPPAR γ との作用の競合や重複が予測されるが, PPAR δ の内因性リガンドや選択的合成リガンドが得られていなかったために, 発現組織におけるPPAR δ の役割については明らかにされていない.

骨格筋は全身の約 80%のミトコンドリアを含んでいることに加え, インスリン応答性のグルコースの取り込みの 75%以上を担っていることから, 個体のエネルギー消費およびインスリン応答性を決定する最も重要な臓器であることが知られている. 骨格筋での脂肪酸代謝は PPARs の支配下にあると考えられているが, 生理的条件下においてどのアイソフォームが調節に関わっているのか, 作用の重複の可能性も含め明らかでない. しかし, 骨格筋では他のアイソフォームと比較して PPAR δ が高発現であること, 絶食下の PPAR α ノックアウトマウスでは, 肝臓および心臓の脂肪酸代謝が野生型マウスと比較して低下しているが骨格筋の脂肪酸代謝は影響を受けないことから, PPAR δ が骨格筋の脂質代謝に関与することが示唆されている.

本研究では, PPAR δ の骨格筋における役割を明らかにすることを目的として, ラット骨格筋由来細胞株 L6 を PPAR δ 選択的アゴニスト GW501516 にて処置し, 得られた RNA を用いて Affimetrix 社オリゴヌクレオチドマイクロアレイ解析による標的遺伝子の同定を行った. その結果, PPAR δ アゴニストは脂肪酸の取り込み・輸送, ミトコンドリア脂肪酸 β 酸化系酵素や脱共役タンパク質などの一連の脂肪酸代謝関連遺伝子の発現を誘導した. また, PPAR δ アゴニストはグルコース酸化の律速反応を触媒するピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体 (PDC) の α サブユニットをリン酸化することによって PDC の活性を抑制するピルビン酸デヒドロゲナーゼキナーゼ 4 (PDK4) を誘導することを明らかにした. さらに, パルミチン酸を基質とした脂肪酸の β 酸化能を測定した結果より, PPAR δ のアゴニストは L6 筋管細胞の脂肪酸 β 酸化を有意に促進することを明らかにした. これらの作用は, PPAR α あるいは PPAR γ のアゴニストでは認められず, PPAR δ アゴニストに特異的な作用であることを明らかにした. これらのことから, PPAR δ は骨格筋の脂肪酸代謝を司る重要な因子 (脂肪燃焼センサー) であることが示唆された.

PPAR δ は骨格筋における「脂肪燃焼センサー」として機能していることから, PPAR δ ア

ゴニストは脂肪酸の代謝およびエネルギー消費を亢進させて他の組織からの脂肪酸動員を増加させることにより抗肥満効果を示す可能性が考えられる。そこで、高脂肪食負荷したマウスに GW501516 を投与して体重増加に及ぼす影響について検討した。その結果、PPAR δ アゴニストは摂餌量および行動量に影響することなく、高脂肪食負荷による体重増加を約 40%抑制した。このとき、PPAR δ アゴニストを投与したマウスでは基礎代謝量の亢進、皮下および腸管膜脂肪重量の減少が認められた。また病理所見より、高脂肪食を負荷したマウスでは、顕著な脂肪細胞の肥大化、骨格筋および肝細胞中に脂肪滴の蓄積が認められるが、GW501516 投与群ではこれらの所見は改善されていた。このことから、PPAR δ アゴニストは骨格筋における脂肪酸 β 酸化を促進させることによって、適応型熱産生を亢進させ抗肥満効果を示すことを明らかにした。

次にインスリン抵抗性に及ぼす影響を検討した結果、PPAR δ アゴニストはグルコース負荷試験において血中からのグルコースの消失を有意に促進する一方、インスリン負荷試験において有意な血糖低下作用を示した。これらの結果より、GW501516 を投与した動物ではインスリンに対する感受性が亢進していることが示唆された。同様に、レプチンを遺伝的に欠損している *ob/ob* マウスを用いた検討において、GW501516 は空腹時および随時血糖、血中インスリン値を低下させインスリン抵抗性を改善した。さらに、GW501516 を投与した *ob/ob* マウスでは、膵島の肥大化がほぼ正常化しており、膵島における PPAR δ の活性化がインスリン抵抗性によって引き起こされる膵島の肥大化、その後の β 細胞の欠失を防御または遅延させて膵島の保護作用を示すことが推察された。

以上のことより、PPAR δ は骨格筋の「脂肪酸燃焼センサー」としての役割を有しており、PPAR δ アゴニストは骨格筋の脂肪酸 β 酸化ならびに脱共役タンパクを誘導することによりエネルギー消費を亢進させ、脂肪組織などからの脂肪酸を骨格筋に動員させることを明らかにした。これらの作用により、PPAR δ アゴニストは肥満、インスリン抵抗性、高インスリン血症、耐糖能異常、凝固線溶系異常、高 VLDL-TG 血症、低 HDL-C 血症および高血圧症が一個人に集積するメタボリックシンドロームの理想的な薬剤になることが示唆された。

本研究は、*in vitro* でのトランスクリプトーム解析に基づいた PPAR δ の機能予測に踏みとどまらず、*in vivo* モデルを用いて PPAR δ 活性化薬の薬理作用を検討することで、これまで明らかにされていなかった生体内、特に骨格筋の脂肪酸代謝における PPAR δ の役割についての知見に加え、PPAR δ 活性化薬がメタボリックシンドロームの新規治療薬になる可能性を提示するものである。